

## University of Groningen

### Over en door de grenzen van het leven

Konings, Wil N.

**IMPORTANT NOTE:** You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

*Document Version*

Publisher's PDF, also known as Version of record

*Publication date:*

2002

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

*Citation for published version (APA):*

Konings, W. N. (2002). *Over en door de grenzen van het leven*. s.n.

**Copyright**

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

**Take-down policy**

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

# Over en door de grenzen van het leven

Afscheidscollege als Gewoon Hoogleraar  
in de Microbiologie  
aan de Rijksuniversiteit Groningen  
gegeven op 18 juni 2002

door

Dr.Wil N.Konings

**Aan Ine**

*Mijnheer de Rector,*

*Dames en Heren*

*Inleiding*

Het Vakgebied Biologie bestudeert de vele facetten en eigenschappen van levende organismen. Deze wetenschap mag zich verheugen in een grote belangstelling van studenten en de afdeling Biologie is in betrekkelijk korte tijd de grootste studierichting geworden binnen de Faculteit Wiskunde en Natuurwetenschappen van de Rijksuniversiteit Groningen. Deze belangstelling voor de Biologie en de levenswetenschappen in het algemeen is niet beperkt gebleven tot de RuG. Dezelfde tendens is de laatste 15 tot 20 jaar waar te nemen bij andere nederlandse en buitenlandse universiteiten. In toenemende mate verschuift de belangstelling van de studenten van de zogenaamde harde  $\beta$ -vakken, scheikunde, natuurkunde en wiskunde, naar de biologie. Hiervoor zijn vele redenen aan te wijzen. Ik wil hier volstaan met te signaleren, dat de biologie de afgelopen vijftig jaar een geweldige ontwikkeling heeft doorgemaakt, waarbij de oorspronkelijk sterk beschrijvende benadering geleidelijk aan vervangen is door een sterk experimentele. Deze veranderingen zijn vooral te danken aan de ontwikkelingen van gevoelige meettechnieken en apparatuur, waardoor de bioloog in de gelegenheid werd gesteld om zeer gedetailleerde vragen, omtrent de eigenschappen van levende organismen, te beantwoorden. Deze ontwikkelingen zijn vooral mogelijk gemaakt door natuurkundig en scheikundig onderzoek. Biologie is dan ook bij uitstek een wetenschap waarin verschillende disciplines zijn geïntegreerd. Meer nog dan voorheen dient de bioloog te beschikken over een brede kennis van de Wiskunde en Natuurwetenschappen. Ook in de toekomst zal de voortgang van het biologisch onderzoek sterk blijven leunen op de resultaten van fundamenteel onderzoek in de harde  $\beta$ -vakken. Alleen al vanuit die optiek is ook in de toekomst een brede  $\beta$ -faculteit in de RuG nodig en gewenst.

Ondanks de enorme ontwikkeling die de biologie heeft doorgemaakt, is onze kennis van het leven en de levende organismen beperkt en is maar een heel klein stukje van de sluier opgelicht. Om U een voorbeeld te geven: van alle levende bacteriën die op aarde voorkomen, is thans minder dan 1 procent in meer of mindere mate bestudeerd. De eigenschappen van 99 procent van de bacteriën zijn een groot mysterie en hun rol in de samenleving van organismen hier op aarde is nog volledig duister.

De minimale eenheid van het leven is de biologische cel. Zo'n cel is een zeer complex geheel van onderdelen, die op een heel gecoördineerde en gecontroleerde wijze met elkaar samenwerken om leven te realiseren. Het is nog verre van duidelijk hoeveel onderdelen minimaal hiervoor nodig zijn. Prof. Piet Borst heeft deze kwestie onlangs aangekaart in zijn kolom in de NRC en geconcludeerd dat een minimale cel slechts enkele honderden genen moet bevatten. Enkele dagen later publiceerde Prof. Karl Stetter van de Universiteit van Regensburg de ontdekking van een micro-organisme met minder dan 400 genen. Dat is bijzonder weinig, als U dat vergelijkt met het aantal van ongeveer 4300 genen in de darmbacterie *Escherichia coli* en van minstens 30.000 genen in de menselijke cel.

De grootste uitdaging van de Biologie is natuurlijk om te begrijpen hoe de onderdelen in zo'n minimale cel samenwerken, zodat leven mogelijk is. Nog heel veel onderzoek zal nodig zijn om deze vraag te kunnen beantwoorden, maar ik ben ervan overtuigd, dat het antwoord op die vraag in de nabije toekomst gegeven kan worden. Deze eeuw wordt wel aangeduid als de eeuw van de levenswetenschappen. Het is in de lijn der verwachtingen, dat in deze eeuw een antwoord kan worden gegeven op de zojuist gestelde vraag en het wekt dan ook geen verbazing dat de studie biologie met de huidige onderzoeksmogelijkheden, studenten die een duidelijke exacte belangstelling hebben, aanspreekt.

Het terrein van de Biologie, waar ik me mee heb bezig gehouden, is de Microbiologie. Dit vakgebied bestudeert levende organismen, die slechts uit één enkele cel bestaan,

zoals bacteriën en gisten. Bacteriën behoren tot de oudste en eenvoudigste organismen die we hier op aarde aantreffen (Figuur1).

Fout! Objecten kunnen niet worden gemaakt door veldcodes te bewerken. Figuur 1: Doorsnede door een bacterie. De celwand is een stevig omhulsel en bepaald de vorm van de bacterie; de celmembraan omhult de celinhoud, waarin onder andere de genetische informatie in het DNA is gelegen.

Bacteriën zijn bijzonder klein met een gemiddelde doorsnede van 1/1000 mm. Toch treffen we in bacteriën een enorme variatie in levensprocessen aan, die het bacteriën mogelijk maken in de meest gevarieerde omstandigheden te leven. Sommige organismen geven zelfs de voorkeur aan extreme omstandigheden, zoals milieu's met de zuurgraad van geconcentreerd zwavelzuur of met temperaturen van 113° C en drukken tot 1000 atmosfeer.

Bacteriën zijn absolute levenskunstenaars. Ze zijn in staat om nog uit de meest moeilijk afbreekbare stoffen energie en bouwmaterialen te halen en hebben de meest ingenieuze oplossingen gevonden voor de problemen, waarvoor ze worden gesteld. Ik zal daar zo dadelijk enkele voorbeelden van geven.

### *De celmembraan*

In het kleine volume van een bacterie van 0.5  $\mu\text{m}^3$  (1  $\mu\text{m}$  = 1/1000 mm) moet heel wat gebeuren. Een complex arsenaal van machientjes (ook wel enzymen genoemd) is aanwezig om voedingsstoffen en energiebronnen uit de omgeving de cel in te krijgen, deze af te breken tot bouwstoffen voor nieuwe cellen en om energie te leveren om het hele wagenpark te laten draaien. Dit enorme complex van activiteiten kan in dat kleine celvolume alleen dan goed plaats vinden, als de samenstelling van die cel-inhoud zorgvuldig gecontroleerd wordt. Dat vereist een strikte scheiding van de celinhoud met de buitenwereld. Deze scheiding wordt niet gerealiseerd door de celwand omdat die grote gaten bevat, waar stoffen gemakkelijk door heen kunnen. Het is de celmembraan, die de celinhoud scheidt

van de vloeistof, waarin de cel zich bevindt. Deze celmembraan is een heel dun vliesje ( $5 \times 10^{-6}$  mm dik) dat de celinhoud omhult (Figuur 2).

**Fout! Objecten kunnen niet worden gemaakt door veldcodes te bewerken.**      Figuur 2: Stukje uit een celmembraan.

De cel-membraan bestaat ongeveer voor de helft uit vetten (lipiden) en voor de andere helft uit eiwitten. De lipiden vormen daarin een dubbellaag, waarbij de waterafstotende staarten van de lipiden naar het binnenste van de membraan zijn gericht. Deze dubbellaag van lipiden is vloeibaar, weliswaar minder dan water en meer zoals de vloeibaarheid van een dikke olie. In deze vloeibare laag drijven de membraan-eiwitten. De celmembraan kan de cel inhoud zo goed afschermen van de buitenwereld, omdat de meeste stoffen goed op lossen in water, maar heel slecht in de vetachtige membraan.

Toen ik min of meer per toeval in 1969 met het onderzoek van transporteiwitten begon, was het terrein van de celmembranen nog volledig onontgonnen. De biochemische kennis van membranen was gering en de meeste aandacht was gericht op de studie van de chemische structuur van de lipiden in de membranen. De vakgroep Biochemie van de Universiteit van Utrecht, onder leiding van Prof. Laurens van Deenen, speelde in dat onderzoek internationaal een leidende rol. De functie van de eiwitten in de membranen was verre van duidelijk en omdat het werken met eiwitten, die alleen in vetten willen oplossen, technische problemen opleverden, werd maar weinig onderzoek aan deze eiwitten gedaan.

Om te kunnen leven zullen cellen voedingsstoffen en energiebronnen uit de omgeving moeten oppikken en door de membraan naar binnen moeten brengen. Tevens moeten afvalproducten, die ontstaan bij de afbraak van deze stoffen, de cel weer kunnen verlaten. De cel heeft dus eenzelfde probleem als een middeleeuwse ommuurde stad. Ook in zo'n stad moesten veel grondstoffen naar binnen en afval naar buiten. Daarvoor waren in zo'n stadsmuur poorten

gebouwd, waardoor, onder het toezicht van bewakers, gecontroleerd vervoer van buiten naar binnen en omgekeerd mogelijk was.

### *Transporteiwitten*

Cellen beschikken niet over dergelijke bewakers en poorten, waardoor alle verkeer naar binnen of buiten moet plaats vinden, zijn voor zo'n cel dan ook niet zo erg zinvol. De cel beschikt echter wel over eiwitten in de membraan die, als kleine machientjes, het transport van stoffen door de membraan mogelijk maken (Figuur 3).

**Fout! Objecten kunnen niet worden gemaakt door veldcodes te bewerken.** Figuur 3: Transporteiwitten in de celmembraan vervoeren voedingsstoffen en energiebronnen naar binnen en afvalstoffen naar buiten. De celwand bevat grote gaten waar deze stoffen gemakkelijk door kunnen.

Deze zogenaamde transporteiwitten zijn zeer selectief en elk eiwit kan maar een of enkele sterk op elkaar lijkende stoffen transporteren. Tijdens de groei van een cel moeten veel verschillende stoffen de cel in en uit en dus zijn veel verschillende transporteiwitten nodig. In de celmembraan van *Escherichia coli* zitten maar liefst 260 verschillende transport eiwitten. De membraan zit dus vol met dergelijke transport eiwitten. Ze zitten mannetje aan mannetje in de membraan en de lipiden vullen de gaten tussen de eiwitten op.

Transporteiwitten zijn essentieel voor een cel. Het belang van deze transporteiwitten blijkt onder andere uit het feit, dat meer dan 10 % van alle genetische informatie, die in een cel aanwezig is, wordt gebruikt voor het maken van dergelijke transporteiwitten.

*Escherichia coli* deelt elke 20 minuten. In die tijd wordt dus weer een nieuwe cel gebouwd en moet ten minste het bouw materiaal van een bacteriecel door de membraan naar binnen zijn getransporteerd. Een eenvoudige schatting leert ons dat er in die 20 minuten minstens zo'n miljard ( $10^9$ ) moleculen door de celmembraan verplaatst moeten worden. Omdat elk transport eiwit maar enkele moleculen per



seconde kan vervoeren, moeten er in de membraan voor sommige stoffen enkele tien-duizenden transporteiwitten zitten, om dit karwij te klaren.

### *Biologische energie*

De meeste transporteiwitten vervoeren de stoffen niet alleen, maar hopen ze ook tot hoge concentraties aan de andere kant van de membraan op. Transporteiwitten zijn dan ook kleine moleculaire motoren, die energie nodig hebben om de stoffen te pompen. Voor transport en voor de vele andere activiteiten, die in een cel plaats vinden, is veel energie nodig. Die energie kunnen de cellen verkrijgen door de afbraak van voedingsstoffen, zoals suikers. Energie kan in vele verschillende vormen voorkomen, zoals licht, electriciteit, warmte en massa. Net als electro- of benzine motoren, moet ook voor een cel de energie in een heel specifieke vorm beschikbaar zijn. De energie die een cel kan gebruiken wordt *Biologische energie* genoemd. Deze biologische energie kan in twee vormen voorkomen: als chemische energie in de energierijke verbinding ATP en als electrochemische energie in de vorm van de protonen drijvende kracht (Figuur 4) **Fout! Objecten kunnen niet worden gemaakt door veldcodes te bewerken.**

#### Figuur 4: Biologische energie vormen

Deze twee energievormen fungeren in een cel als energiepasmunten. Met deze munten kan de cel de energie, die nodig is voor de vele energie-vragende processen, betalen. Het verkrijgen van voldoende biologische energie is van levensbelang en tijdens de evolutie zijn zeer ingenieuze mechanismen ontwikkeld, om het maximum aan energie uit de beschikbare energiebronnen te halen.

ATP kan in een cel op twee fundamenteel verschillende wijzen worden gemaakt (Figuur 5). De chemische energie, die vrijkomt bij de afbraak van een energiebron door enzymen, kan worden vastgelegd in ATP. De hoeveelheid ATP, die op deze wijze uit de energiebron kan worden gehaald, is echter maar een klein gedeelte van de energie die er in aanwezig is. Om meer energie uit de energie bron te halen moet deze worden verbrand. Dat gebeurt in een

proces, dat ademhaling wordt genoemd en daarvoor is zuurstof nodig. Zo'n ademhalingsproces vindt plaats in de membraan.

**Fout! Objecten kunnen niet worden gemaakt door veldcodes te bewerken.**

**Figuur 5: Productie van Biologische energie**

Hoe door ademhaling die extra energie kan worden verkregen is de afgelopen 50 jaar een centrale vraag geweest in het biologisch onderzoek. Vele theoriën zijn gelanceerd en weer verworpen en tijdens internationale congressen werden felle discussies gevoerd tussen voor- en tegenstanders van een bepaalde theorie. Het was de bescheiden maar geniale engelsman Peter Mitchell die in het geïsoleerde Cornwallse plaatsje Bodmin de oplossing vond en waarvoor hem in 1978 de Nobelprijs voor Chemie werd verleend. Ik heb het genoeg gehad enige maanden met deze creatieve, geniale en humoristische wetenschapper te mogen werken. Het was een van de hoogtepunten in mijn carrière.

Mitchell maakte in zijn theorie gebruik van het ondoorlaatbare karakter van membranen (Figuur 5). Hij stelde dat de machine van de ademhaling functioneert als een waterstof-ionen pomp. Tijdens de ademhaling worden waterstof-ionen uit de cel door de membraan naar buiten gepompt. Uit Uw middelbare schoolstudies weet U natuurlijk nog dat de concentratie van waterstof-ionen de zuurgraad of pH van een oplossing bepaalt. Hoe meer waterstof-ionen, hoe meer zuur de oplossing en hoe lager de pH. Als door de pomp waterstof-ionen binnen worden weggehaald, daalt de concentratie van waterstof-ionen binnen en stijgt de pH. De celinhoud wordt dus meer basisch. Tegelijkertijd worden buiten waterstof-ionen opgehoopt en wordt de oplossing buiten dus meer zuur. Daardoor ontstaat een pH verschil tussen binnen en buiten. Omdat waterstof-ionen positief geladen zijn, wordt met de waterstof-ionen positieve lading binnen weggehaald en buiten opgehoopt. Daardoor ontstaat er een verschil in elektrische lading tussen de celinhoud en

de oplossing buiten de bacterie. Het pompen van de waterstof-ionen resulteert dus in zowel een pH-verschil als een ladingsverschil tussen de celinhoud en de oplossing buiten de bacterie.

De natuur wil altijd alles graag in evenwicht brengen. Zo stroomt water van hoog naar laag, tot de water niveaus gelijk zijn. Als de situatie uit evenwicht is, bestaan er krachten, die dat evenwicht weer willen herstellen. Zo ook hier. De verschillen in pH en lading aan beide zijde van de membraan vertegenwoordigen een situatie, die uit evenwicht is. Daardoor worden er op de waterstof-ionen krachten uitgeoefend om dat evenwicht weer te herstellen. Deze krachten op de waterstof-ionen zijn van buiten naar binnen gericht. Waterstof-ionen worden in de chemie *protonen* genoemd en de totale kracht die op de waterstof-ionen wordt uitgeoefend, wordt daarom aangeduid als de protonen drijvende kracht.

Om een protonen drijvende kracht te kunnen opbouwen moet de bacterie er wel voor zorgen, dat de celmembraan niet lek is voor de protonen. Er is de bacteriën veel aan gelegen om aan deze eis te voldoen. Marieke Elferink, Jack van de Vossenberg en anderen hebben laten zien, dat zelfs membranen van organismen, die bij 113° C leven, even weinig lek zijn voor protonen, als membranen van bacteriën, die bij kamer temperatuur leven.

De door de ademhaling gevormde protonen drijvende kracht kan nu gebruikt worden om energie te leveren aan membraan processen, die energie nodig hebben. We hebben gezien, dat de protonen niet zomaar door de membraan de cel in kunnen stromen. Daarvoor zijn de al genoemde transporteiwitten nodig. Deze transporteiwitten kunnen de energie, die vrijkomt bij de terugstroom van protonen, gebruiken om de transportmachine te drijven en om werk te doen. Het mechanisme is dan ook te vergelijken met dat van een watermolen, waarbij de waterstroom de energie kan leveren voor diverse machines.

*Het ATPase*

Een van de machines, die op deze wijze kan worden aangedreven, is de ATP makende machine, het zogenaamde ATPase. Dit is een bijzonder ingewikkelde machine die in alle biologische cellen voorkomt. Het mechanisme van deze machine is enkele jaren geleden opgehelderd door Dr. John Walker uit Cambridge. Hij mocht daarvoor in 1997 de Nobelprijs voor Chemie ontvangen en werd door de RuG in 2000 ge-eerd met een eredoctoraat (Figuur 6).

**Fout! Objecten kunnen niet worden gemaakt door veldcodes te bewerken.**

Figuur 6: ATP-productie door het ATPase. De instroom van waterstof-ionen drijft de rotor in de membraan. Aan die rotor is een as verbonden die meedraait en de ATP-vormende machine drijft.

De stroom van waterstof-ionen, door het membraan gedeelte van het ATPase, drijft een as aan, die op zijn beurt weer de ATP-producerende machine aandrijft. Het geheel werkt dus als een soort nano-electromotor. In de cellen in het menselijk lichaam zitten honderd-duizend miljard ( $10^{14}$ ) van deze machientjes. Ze draaien met een snelheid van zo'n 300 omwentelingen per seconde om U te voorzien van voldoende ATP, ongeveer 1.5 kg per uur.

Door de draaiing van de centrale as heeft het ATP-producerende deel de neiging om mee te gaan draaien. Als dat zou gebeuren, zou minder ATP geproduceerd worden, wat nadelig zou zijn voor de cel. Op grond van deze overweging werd dan ook verondersteld dat er een extra verbinding van het ATP-producerend deel met de membraan zou moeten bestaan. Juke Lolkema, Trees Ubbink en Egbert Boekema hebben deze extra verbinding duidelijk kunnen aan tonen in electronen microscroop foto's van een erg stabiele ATPase uit een bacterie die bij 70° C leeft.

### *Transportprocessen*

De stroom van protonen door de membraan naar binnen, levert niet alleen de energie voor ATP productie, maar ook voor andere energie-vragende processen, zoals het transport door transporteiwitten van voedingsstoffen naar binnen of van afvalstoffen naar buiten. Deze, door de protonen

drijvende kracht gedreven, transport eiwitten zorgen samen met andere transporteiwitten, die de energie van ATP gebruiken, voor de opname of uitscheiding van stoffen door de celmembraan (Figuur 7).

Fout! Objecten kunnen niet worden gemaakt door veldcodes te bewerken. Figuur 7: Transport van stoffen door de membraan gedreven door ATP of door de protonen drijvende kracht.

### *Het onderzoek*

De vragen, die mij de afgelopen 33 jaar hebben beziggehouden zijn onder andere: Hoe zitten die transporteiwitten in elkaar; hoe gebruiken ze de energie om stoffen door de membraan heen te sluizen en hoe werken die transportmachines? Deze vragen zijn niet zo eenvoudig te beantwoorden. Het is alsof je, als een buitenaards wezen, voor het eerst een auto ziet en je afvraagt, waarvoor dat ding dient en hoe het werkt. Als je niets van een auto afweet, is deze vraag al moeilijk te beantwoorden. Hoe dan bij een transporteiwit, dat nog aanzienlijk complexer is en waaraan je niets direct kunt zien of meten, maar alle informatie via een indirecte weg moet zien te verwerven?

In het onderzoek hebben we diverse transporteiwitten uit bacteriën, gisten en schimmels bestudeerd. Ik wil U over twee van deze studies kort iets vertellen n.l. de vorming van een protonen drijvende kracht door uitwisseling van voedingsstof met afvalproduct en de resistentie van bacterien tegen antibiotica en andere toxische stoffen.

### *De vorming van een protonen drijvende kracht door uitwisseling van voedingsstof met afvalproduct*

Veel bacteriën leven zonder zuurstof en zijn daardoor niet in staat om door verbranding de maximale hoeveelheid energie uit hun voedingsstoffen te halen. Deze bacteriën leven vaak onder energie-beperkte condities en hun groei wordt beperkt door de hoeveelheid beschikbare energie. Bacteriën zijn echter ware overlevingskunstenaars en in staat om zelfs in de meest energie-arme omgevingen te overleven. Daarvoor

moeten ze wel uiterst zuinig met hun energie omspringen. Bij de afbraak van de voedingsstoffen binnen in de cel verkrijgen ze door enzymatisch processen ATP, die ze bij voorkeur gebruiken om nieuw celmateriaal te maken. Om te kunnen leven hebben ze echter ook een protonen drijvende kracht nodig o.a. om allerlei voedingsstoffen binnen te krijgen. Deze bacteriën zouden het ATPase als potentiële protonen pomp kunnen gebruiken (Figuren 5 en 6). Door het ATPase omgekeerd te laten werken zouden ze waterstof-ionen naar buiten kunnen pompen en een protonen drijvende kracht kunnen opbouwen ten koste van ATP. Een dergelijke cyclus zou echter heel veel ATP kosten en dus erg ongunstig zijn voor de bacterie.

Veel bacteriën hebben dit probleem op een ingenieuze wijze opgelost. Na opname door de cel wordt een voedingsstof vaak heel snel afgebroken, waardoor de concentratie van deze stof binnen heel laag blijft. Er ontstaat daardoor een concentratie verval van de voedingsstof van buiten naar binnen (Figuur 8).

Dit concentratie verval (ook wel concentratie gradient genoemd) is een vorm van energie, die gebruikt kan worden om het transport van de voedingsstof naar binnen te drijven. Bij de afbraak van de voedingsstof wordt een afvalproduct gevormd, dat vervolgens moet worden uitgescheiden. De concentratie van dit afvalproduct is binnen meestal hoog en buiten laag en er is dan een concentratie verval van het afvalproduct van binnen naar buiten. Als nu de voedingsstof en het afvalproduct chemisch op elkaar lijken, kunnen ze

allebei door hetzelfde transporteiwit worden herkend en getransporteerd: de voedingsstof naar binnen en het afvalproduct naar buiten. Er kan dan een één op één uitwisseling plaats vinden van de voedingsstof en het afvalproduct, zonder dat er energie in de vorm van ATP of een protonen drijvende kracht voor hoeft te worden gebruikt. De concentratie gradienten van beide stoffen drijven dan dus het transportproces

**Fout! Objecten kunnen niet worden gemaakt door veldcodes te bewerken.** Figuur 8: Vorming van een protonen drijvende kracht door opname van een negatief geladen voedingsstof, de opname van een proton bij de omzetting van de voedingsstof in een neutraal afvalproduct en de uitscheiding van dit afvalproduct *via* het zelfde transport eiwit.

Als nu bovendien de voedingsstof en het afvalproduct verschillend elektrisch geladen zijn wordt bij deze uitwisseling ook nog elektrische lading getransporteerd en wordt een elektrische gradient gevormd (Figuur 8). Bij de omzetting van de voedingsstof in het afvalproduct worden vaak protonen opgenomen. Daardoor stijgt binnen de pH en ontstaat een pH gradient tussen binnen en buiten. De opname van de voedingsstof en de uitscheiding van de afvalstof resulteert dan dus in de vorming van beide componenten van de protonen drijvende kracht zonder dat er werkelijk protonen over de membraan zijn gepompt. De aldus gevormde protonen drijvende kracht kan vervolgens gebruikt worden om de vele andere energie-vragende processen in de celmembraan te drijven, zoals de opname van andere stoffen en zelfs de vorming van ATP.

Een voorbeeld van de vorming van een protonen drijvende kracht door een dergelijk proces is de gisting van appelzuur door melkzuur bacterien. Kenners onder U weten ongetwijfeld, dat deze gisting erg belangrijk is voor de smaakvorming van wijn. Als deze gisting niet optreedt, smaakt de wijn erg ranzig door de aanwezigheid van appelzuur. In dit gistingsproces wordt appelzuur opgenomen en binnen omgezet tot melkzuur. Bert Poolman, Juke Lolkema en andere hebben aangetoond dat dit melkzuur de cel verlaat via de appelzuur-transporter. Appelzuur heeft 2 negatieve ladingen en melkzuur maar een. Bij de uitwisseling worden dus twee negatieve ladingen opgenomen en een uitgescheiden. Er gaat netto dus een negatieve lading naar binnen, waardoor de cel binnen negatief geladen wordt ten opzichte van buiten. Daardoor ontstaat een verschil in elektrische lading tussen binnen en buiten. Bij de omzetting

van het appelzuur in de cel in melkzuur wordt een proton opgenomen, waardoor de pH binnen stijgt en een pH verschil ontstaat, binnen basisch t.o.v.buiten. Het hele gistingsproces van appelzuur in melkzuur levert dus beide componenten op van de protonen drijvende kracht. Uit het appelzuur wordt door de cel alleen maar energie gehaald en niets van het appelzuur wordt gebruikt voor de bouw van celmateriaal. Het appelzuur vervult dus in deze bacteriën dezelfde functie als benzine in onze auto's

Er zijn veel bacteriën, die volledig afhankelijk zijn voor hun energie voorziening van dergelijke energie-leverende processen. Anderen gebruiken dergelijke processen in nood situaties om te overleven onder energie-beperkte omstandigheden.

#### *Resistentie van bacteriën tegen antibiotica en andere giftige stoffen*

Het verschijnsel, dat cellen resistent kunnen worden tegen giftige stoffen, is uitgebreid waargenomen bij de behandeling van kankerpatienten met chemotherapie. Tijdens deze chemotherapie worden tumorcellen blootgesteld aan giftige stoffen, die tumorcellen moeten doden. In veel gevallen worden de tumorcellen na enige tijd resistent tegen deze giftige stoffen, waardoor de chemotherapie minder effectief wordt.

Dit verschijnsel wordt *multidrug-resistentie* genoemd omdat resistentie wordt ontwikkeld tegen vele giftige stoffen. Multidrug-resistentie wordt veroorzaakt door transporteiwitten, die giftige stoffen, die de cel binnenkomen, naar buiten pompen. Voor de cellen is het bezit van dergelijke pompen van levensbelang, omdat daarmee wordt voorkomen, dat ze door de eerste beste giftige stof, die de cel tegenkomt, worden gedood.

Ook bacteriën hebben dergelijke multidrug-resistentie pompen. Ze worden in hun natuurlijke leefomgeving vrijwel continu blootgesteld aan giftige stoffen. Dat kunnen chemische stoffen zijn, waarmee de mens het milieu heeft vervuild, maar ook giftige stoffen, die gemaakt worden door dieren of planten om zich tegen bacteriën te beschermen of



antibiotica, geproduceerd door schimmels of andere bacteriën. Om in deze milieu's te kunnen overleven is het bezit van multidrug-resistentie pompen essentieel. Multidrug resistentie is dus een eigenschap die goed is voor de bacteriën maar die grote problemen kan opleveren bij de bestrijding van ziekte-verwekkende bacteriën met antibiotica.

De tweede helft van de vorige eeuw wordt in de Biomedische wetenschappen vaak aangeduid als het antibiotica tijdperk. In die periode werden veel antibiotica ontdekt, die effectief veel ziekte-verwekkende bacteriën konden doden. Daardoor konden, zeker in de westerse wereld, veel infectie-ziektes drastisch worden bestreden. Al snel na de introductie van het eerste antibioticum werden al resistente bacteriën aangetroffen. Het gebruik van antibiotica op grote schaal, het voorschrijven van antibiotica vooral in armere landen als middel tegen elke kwaal, waarvoor de dokter geen remedie heeft, en het gebruik van antibiotica in vee- en kippevoer, als preventie-middel tegen het ontstaan van ziektes in dicht op een gepakte dieren, heeft de ontwikkeling van antibiotica-resistente bacteriën sterk bevorderd. Deze resistentie kan veroorzaakt worden door eigen multidrug-resistentie pompen, maar ook door pompen, waarvan de bacterie de genen, afkomstig van andere bacteriën, uit zijn omgeving heeft opgepikt. De bacterie gebruikt dan dus de pompen, die gestolen zijn van andere bacteriën, om de behandeling met antibiotica te overleven. Genetisch manipulatie is dus niet een vinding van de biotechnologie, maar wordt in de natuur al duizenden jaren toegepast.

Het ontstaan van antibiotica-resistente bacteriën gaat gestaag door. Er worden nu al op meerdere plaatsen in de wereld ziekteverwekkende bacteriën gevonden, die resistent zijn tegen alle antibiotica, die vroeger effectief deze bacteriën konden doden. Voorbeelden daarvan zijn de huidziekte veroorzakende bacterie *Staphylococcus aureus* en de tuberculose bacterie *Mycobacterium tuberculosis*. Als ik U dan bovendien vertel, dat meer dan de helft van alle sterfgevallen in de wereld nog steeds veroorzaakt wordt door infectieziekten, dan kunt U zich voorstellen hoe bedreigend die ontwikkeling van antibiotica-resistente bacteriën is voor

de volksgezondheid. Het heeft de Wereld Gezondheid Organisatie WHO in 1996 en 2001 gebracht tot de volgende waarschuwing:

*“De world may be heading for a global crisis in infectious diseases which are already the leading cause of death worldwide. The alarmbell is ringing loud and clear”.*

Onze favoriete bacterie in het onderzoek omtrent transportprocessen is de melkzuurbacterie *Lactococcus lactis*. Dit prachtige organisme wordt veelvuldig gebruikt voor de productie van voedingsmiddelen zoals kaas, gefermenteerde groenten en vlees. Door puur toeval ontdekte Douwe Molenaar in deze bacterie een, nog niet eerder in bacteriën gevonden, multidrug-resistentie pomp. Deze pomp blijkt de melkzuur bacterie resistent te maken tegen vele giftige stoffen, inclusief 17 van 21 medisch meest gebruikte antibiotica. Nader onderzoek heeft ons geleerd, dat deze pomp verbazendwekkend sterk lijkt op de multidrug-resistentie pomp in de mens, die kanker cellen resistent maakt tegen chemotherapie. Het bezit van multidrug-resistentie pompen is kennelijk zo belangrijk voor overleving van cellen, dat deze pompen tijdens de evolutie van bacterie tot mens uitzonderlijk goed bewaard zijn gebleven.

Bacteriën zijn veel gemakkelijker te kweken en te manipuleren dan menselijke cellen. De bacteriële multidrug-resistentie pomp is, mede daardoor, een ideaal modelwit voor de studie naar de eigenschappen van dergelijke pompen. Het onderzoek heeft ons onder andere geleerd hoe resistentie wordt gerealiseerd. Het antibioticum is meestal vetoplosbaar en gaat daardoor gemakkelijk de membraan in (Figuur 9). . Fout! Objecten kunnen niet worden gemaakt door veldcodes te bewerken. Figuur 9: Opname in de celmembraan en uitscheiding van een antibioticum (aangegeven met een kruis) vanuit de binnenlaag van de membraan direct naar buiten door de multidrug-resistentie pomp.

Dit oplossen gebeurt in eerste instantie in de buitenste laag van de lipide dubbellaag (stap A in Figuur 9). Vervolgens flipt het antibioticum van de buitenlaag over naar de binnenlaag (stap B). Dat flippen is een heel langzaam proces. Vanuit die binnenlaag kan het antibioticum de cel binnen dringen (stap C) en daar zijn giftige werking uitoefenen. Echter, als een multidrug-resistentie pomp aanwezig is, wordt het uit die binnenlaag opgepikt (stap D) en direct weer naar buiten gepompt (stap E in Figuur 9). Omdat het flippen langzaam verloopt, is de pomp in staat de binnenlaag van de membraan vrij te houden van het antibioticum en kan daardoor voorkomen dat het antibioticum de cel binnen komt. Multidrug-resistentie pompen zijn door dit betrekkelijk eenvoudige maar ingenieuze mechanisme dus in staat, om effectief antibiotica en andere giftige stoffen uit de cel houden en te voorkomen dat ze de cel doden. Toekomstig onderzoek zal ons moeten leren, hoe we deze multidrug resistentie pompen kunnen remmen, zodat de antibiotica weer effectief de cellen kunnen doden. Dit onderzoek is urgent en verdient uitgebreide steun.

#### *Verantwoording*

Het onderzoek aan transport processen is bij uitstek multidisciplinair en kan alleen succesvol worden uitgevoerd door een team van onderzoekers, die bereid zijn de eigenschappen van deze eiwitten te ontrafelen met behulp van alle daarvoor bruikbare chemische, fysische en biologische technieken. Het is goed om na 33 jaar onderzoek van transport- processen de balans op te maken.

In het onderzoek hebben behalve de wetenschappelijke staf en analisten veel postdoctorale onderzoekers, promovendi en studenten meegewerkt. Tevens is in de meeste onderzoekprojecten samengewerkt met wetenschappers uit nationale en internationale onderzoeksinstituten. Een ruwe schatting leert, dat in het totaal meer dan 600 mensjaren aan dit onderzoek zijn besteed. De resultaten van onderzoek worden vaak uitgedrukt in het aantal publicaties in internationale wetenschappelijke tijdschriften. Daarvan zijn meer dan 500 uit het onderzoek voortgekomen.

De kosten van dit onderzoek waren niet gering en bedroegen ruwweg zo'n 20 miljoen Euro's. Hiervan was zo'n 20 tot 25 procent afkomstig direct van de Universiteit en de rest van andere financiële bronnen zoals de Europese Gemeenschap, de Nederlandse Organisatie voor Wetenschappelijk Onderzoek NWO en de Industrie. De gemiddelde kosten van een publicatie bedroeg dus zo'n 40.000 Euro's.

Wat zijn we door inzet van al die mensen en dat geld nu wijzer geworden? Het onderzoek heeft ons een gedetailleerd inzicht verschaft in de verschillende machines, die een cel ter beschikking staan om stoffen door de membraan te transporteren en omtrent de rol die deze machines spelen in het functioneren van de cel. De gen-volgordes, die nu van vele organismen bepaald zijn en worden, maken het mogelijk direct vast stellen welke transport systemen die organismen bezitten en deze kennis kunnen we gebruiken om voorspellingen te doen omtrent de eigenschappen van die organismen.

Veel moleculaire details zijn nu bekend van de structuur van deze transport-motoren. Toch is ons inzicht nog niet voldoende om te begrijpen hoe deze machines precies werken. Er valt dus nog heel veel te doen.

### *Subsidiebeleid*

Het zal duidelijk zijn dat er veel geld en menskracht nodig is om de details te ontrafelen van het gehele arsenaal van machines, die samen het leven vormen. Het is een moeizaam proces en we zijn pas aan het begin. Nederland besteed veel geld aan wetenschappelijk onderzoek en we beschikken over uitstekend opgeleide, getalenteerde en gedreven onderzoekers. Toch vinden er te weinig belangrijke wetenschappelijke doorbraken in Nederland plaats. Daar zijn mijns inziens een aantal oorzaken voor aan te wijzen. Het subsidie beleid in Nederland en zeker in de Europese gemeenschap is sterk gericht op onderzoek, dat maatschappelijk relevant is. Maatschappelijke problemen moeten worden opgelost of de resultaten van het onderzoek moeten toepasbaar zijn of worden voor het bedrijfsleven.

Het is al vaak genoeg gezegd, dat dergelijk onderzoek niet leidt tot grote ontdekkingen. Daarvoor is onze kennis van het leven en de materie nog te gering. Het is juist de nieuwsgierigheid van de onderzoeker, die tijdens het onderzoek een interessante waarneming doet en het daardoor aangegeven spoor verder volgt, wat leidt tot de doorbraken in de wetenschap. De hierboven besproken biologische energie producerende systemen door uitwisseling van voedingsstof met afvalproducten en de multidrug resistentie pompen in bacteriën zijn bij toeval tijdens het onderzoek gevonden. Dergelijke zaken bedenk je niet achter de studeertafel, daar loop je tijdens het onderzoek tegen aan. Dat is wat wetenschap zo boeiend maakt, en waarom onderzoekers er dag en nacht mee bezig kunnen zijn. Het huidige subsidie-beleid laat de onderzoeker weinig wetenschappelijke vrijheid. Om financiële steun te krijgen voor onderzoek moeten subsidie-aanvragen worden ingediend, waarin in detail vermeld staat, wat het doel van het onderzoek is, hoe het onderzoek gedurende een aantal jaren gaat worden uitgevoerd en welke belangrijke wetenschappelijke resultaten het onderzoek zal opleveren. Het schrijven van dergelijke subsidie aanvragen kost vreselijk veel tijd en slokt voor actieve onderzoekers vaak 25 procent of meer van de werktijd op. Vervolgens worden deze subsidie aanvragen beoordeeld door meerdere collegae in het vakgebied. Ook het beoordelen van dergelijke aanvragen is een veel tijdvrugnende activiteit. Tenslotte is er een commissie van wetenschappers die al die verschillende aanvragen en hun beoordelingen naast elkaar legt en een prioriteitsvolgorde vast stelt. Uiteindelijk honoreert dan de subsidie gevende instantie enkele projectaanvragen. Dat aantal ligt in de meeste gevallen onder de twintig procent en soms nog veel lager. De hoeveelheid onderzoekstijd, die dan wordt gefinancierd, is vaak nauwelijks meer dan de tijd, die de onderzoekers en de beoordelaars nodig hebben gehad om tot een zorgvuldig geformuleerde aanvraag en evaluatie te komen. Als U dan bovendien weet, dat van alle gehonoreerde plannen meestal niets terecht komt, omdat al heel snel blijkt dat het onderzoek anders loopt dan gepland en dat voor een goed eind resultaat andere wegen moeten

worden ingeslagen, dan mag je je met recht afvragen, waar we met zijn allen mee bezig zijn. Ik kan U in vertrouwen vertellen dat van de vele gehonoreerde project-subsidies, die ik mocht ontvangen, de meeste en zo niet allen een andere verloop en resultaat hebben gehad, dan in de aanvraag was voorspeld.

Lange termijn subsidies, waardoor excellente onderzoekers en onderzoekteams zich gedurende meerdere jaren ongestoord aan een onderzoek kunnen wijden, ontbreken in Nederland. Toponderzoek instituten, zoals de Max Planck Instituten in Duitsland, de Medical Research Council Institutes in Engeland en de Howard Hughes Medical Institutes in de Verenigde Staten, ontbreken in Nederland en het zijn juist dergelijke instanties, die de Nobelprijs winnaars opleveren. In deze instituten is continuïteit in het onderzoek mogelijk en kunnen boeiende ontdekkingen voor langere periodes worden gevolgd.

Het zal U wel duidelijk zijn, dat ik van mening ben dat het hoog tijd wordt, dat het contra-productieve en frustrerende subsidie beleid, zoals dat nu in Nederland en de Europese gemeenschap wordt gevoerd, op de helling gaat.

Hoe moet dan naar mijn idee het subsidiebeleid er uit zien? Op de eerste plaats, denk ik, dat er een eind moet komen aan de vele subsidiefondsen voor vernieuwingsprogramma's, speerpuntenbeleid, innovatieprogramma's en wat dies meer zij. Bijna maandelijks worden nieuwe programma's gestart met het doel om met betrekkelijk weinig geld, in korte tijd, zeer complexe vraagstukken op te lossen. Bundeling van I deze gelden in een algemene subsidiepot is dringend gewenst. Beginnende onderzoekers moeten op basis van goede onderzoekplannen financiering voor hun onderzoek uit deze algemene subsidiepot kunnen ontvangen.

Op de tweede plaats zal een belangrijke basis voor het toekennen van subsidies moeten zijn de wetenschappelijke prestaties, die door individuele onderzoekers of onderzoeksteams zijn geleverd. Op basis van die prestaties moeten substantiele subsidies uit de algemene subsidiepot worden toegekend voor langere periodes. Tijdens de subsidieperiode kan een tussentijdse evaluatie plaats vinden, waarna tot continuering of stopzetting van

de subsidies kan worden besloten.

Op de derde plaats zullen goede onderzoekers en onderzoeksteams de vrijheid moeten hebben om, binnen bepaalde kaders, zelf te beslissen welk fundamenteel wetenschappelijk onderzoek gedaan gaat worden. De invloed van het bedrijfsleven en maatschappelijke instanties op fundamenteel wetenschappelijk onderzoek moet beperkt blijven tot dat onderzoek dat het bedrijfsleven zelf financiert. Ik wil daarbij aantekenen, dat mijns inziens expliciet toegepast onderzoek niet thuis hoort aan een Universiteit.

Er is hoop: het vernieuwingsprogramma Veni, vidi, vici, dat onlangs is gelanceerd, is een stap, maar ook niet meer dan dat, in de goede richting.

### *Tenslotte*

Ik hoop dat U uit het voorgaande niet het idee heeft gekregen, dat ik gefrustreerd afscheid neem. Niets is minder waar. Ik heb tot op de dag van vandaag elke dag genoten van mijn werk aan deze universiteit. Ik prijs me gelukkig te hebben mogen werken aan een universiteit die veel waarde hecht aan goed wetenschappelijk onderzoek, waarin de afstand tussen bestuur en de werkvloer kort is en waar in de Faculteit Wiskunde en Natuurwetenschappen en zeker binnen de Afdeling Biologie de relaties tussen onderzoekers en onderzoeksteams uitstekend is.

Een goede vriend en collega Dr.Ron Kaback heeft de veel gebruikte spreuk gelanceerd: "It is better to be lucky than to be smart". Dat geluk is mij op vele momenten in mijn carrière ten deel gevallen. Ik noem hier enkele: mijn opvoeding in een gelukkig en harmonieus gezin, mijn opleiding aan het Laboratorium voor Biochemie onder leiding van Prof. Max Gruber en de diverse goede leermeesters, collegae en vrienden die ik daar heb ontmoet; mijn postdoctorale periode op het National Institute of Health in Bethesda in Washington D.C., USA, waar de guru van de membraan transportwereld, de al eerder genoemde Dr.Ron Kaback, mij in enkele intense weken de geheimen van het vak heeft bijgebracht, wat het begin inluidde van een jarenlange vriendschap; een aanstelling tot wetenschappelijk medewerker in de vakgroep

Microbiologie met als hoofd de excellente microbioloog en leermeester Prof.Hans Veldkamp; een sabbatical leave in Cornwall waar ik in discussies tot diep in de nacht met Peter Mitchell geconfronteerd werd met de implicaties van zijn briljante theorie en niet op de laatste plaats de interacties en vriendschappen met vele excellente buitenlandse en binnenlandse onderzoekers. Ook hier in huis is dit geluk me uitgebreid ten deel gevallen met de vele getalenteerde en gedreven studenten, analisten, promovendi, postdocs en collegae die in het onderzoek meewerkten. Meerdere van mijn promovendi zijn al ver gevorderd met een briljante carrière. De tijd ontbreekt me om veel namen te noemen. Ik wil voor twee mensen een uitzondering maken: Prof.Arnold Driessen en Prof.Bert Poolman. Na hun cum laude promotie en een postdoctorale periode in de Verenigde Staten heb ik met beiden gedurende vele jaren mogen samenwerken. Het succes van de onderzoeksgroep is in belangrijke mate te danken geweest aan hun excellente wetenschappelijk inzichten, leiderscapaciteiten en inzet. Voor hun royale steun en vriendschap ben ik hun veel dank verschuldigd.

Ook in mijn gezin, mijn familie en mijn vrienden liet het geluk me niet in de steek. En dan last but not least: Ine. Een sterke vrouw die mij al die jaren met haar liefde heeft omringd en mij de vrijheid heeft gelaten om me voor mijn passie volledig in te zetten. Veel eenzaamheid en verantwoordelijkheid waren haar deel. Maar als het echt nodig was aarzelde ze niet om me tot de orde te roepen. Haar in het bijzonder ben ik veel dank verschuldigd.

Ik sluit af. Het was me een eer en een genoegen hoogleraar microbiologie te mogen zijn aan deze universiteit.

Ik dank U voor Uw aandacht